

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(11) **263884**

(13) B1

(21) PV 8777-87.I
(22) Přihlášeno 03 12 87

(40) Zveřejněno 16 09 88
(45) Vydáno 15 07 89

(51) Int. Cl. 4
G 01 N 33/50

(75)
Autor vynálezu

TKACZYKOVÁ MAGDA ing., FLEGEL MARTIN RNDr. CSc., ŠAFAŘÍK
LUDĚK RNDr. PhMr. CSc., PRAHA

(54)

Způsob stanovení desacetylmepitpranololu v biologickém materiálu

(57) Způsob stanovení desacetylmepitpranololu v biologickém materiálu spočívá v extrakci biologického materiálu organickým rozpouštědlem, např. chlorovaným uhlovodíkem, které se odpaří a odparek se analyzuje vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s elektrochemickou detekcí. Jako vnitřní standard se použije pindolol. Navržený způsob stanovení je použitelný pro monitorování léčby pacientů mepitpranololem (Trimepranololem SPOFA) a pro farmakokinetické studie mepitpranololu.

Desacetylmepipranolol (DM) je farmakologicky účinným metabolitem původního československého neselektivního beta-sympatolytika mepipranololu, vyráběného pod názvem Trimepranol SPOFA (tabl. à 10 mg nebo 40 mg) a používaného jako sympatolytikum, antiarytmikum a antihypertenziivum. DM vzniká desacetylací trimepranolu ihned po podání do organismu. Z hlediska monitorované léčby pacientů je proto třeba sledovat a stanovovat právě hladinu DM. V literatuře bylo popsáno stanovení DM metodou plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) a metodou tenkovrstvé chromatografie (TLC) s densitometrickým vyhodnocením.

Nevýhodou metody GC-MS je vysoká pořizovací cena hmotnostního spektrometru, metoda TLC nemá dostatečně vhodnou citlivost pro monitorování hladin DM v plasmě. Vysokoúčinné kapalinové chromatografie nebylo dosud použito.

Stanovení desacetylmepipranololu v biologickém materiálu podle vynálezu spočívá v extrakci účinné látky do organického rozpouštědla, např. chlorovaného uhlovodíku, následované odpařením organické fáze a kapalinověchromatografickou analýzou rozpouštěného odparku.

S výhodou se při klinickém sledování hladiny DM využívá krevní plasmy jako vzorku, dichlormethanu jako extrakčního rozpouštědla a vysoko účinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí jako analytické metody.

Nově navrhovaná metoda stanovení DM je jednoduchá a selektivní, nevyžaduje ná-

ročnou úpravu vzorku, používá jako vnitřní standard snadno dostupný pindolol a dovoluje pracovat metodou kalibrační křivky. Recovery metody je 83 %.

Relativní směrodatná odchylka pro 25 ng na 1 ml plasmy je 6,4 %, pro 50 ng/1 ml plasmy je 4,8 %. Detekční limit metody je 2 ng/1 ml plasmy.

Příklad provedení

K 1,0 ml plasmy se přidá 25,0 mg pindololu, 300 μ l 0,2 molu/l NaOH a vytřepe se 2 $\times$ 5 ml dichlormethanu vhodné čistoty. Spojené výtřepky se odpaří ve vakuové odparce k suchu. Odparek se rozpustí v 0,50 mililitrech mobilní fáze a 20 μ l se ihned injikuje na kolonu kapalinového chromatografu. Jako mobilní fáze je vhodný roztok o složení: 600 ml 0,05 molu/l H_3PO_4 + 400 mililitry methanol + 5 mg NaEDTA; pH fáze se upraví koncentrovaným vodným roztokem NaOH na hodnotu 3,0. Vhodným materiálem chromatografické kolony je sorbent ODS (C 18) o velikosti 5 μ m, teplota kolony 50 °C a průtoková rychlost 0,8 ml za minutu. Pro detekci je vhodný elektrochemický detektor.

Výsledky

Při aplikaci metody na reálné vzorky bylo 90 minut po podání tablet Trimepranol SPOFA dvěma zdravým dobrovolníkům nalezeno 38 ng, resp. 43 ng desacetylmepipranololu v 1 ml jejich plasmy.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob stanovení desacetylmepipranololu v biologickém materiálu po jeho extrakci organickým rozpouštědlem a odpaření použitého rozpouštědla, vyznačující se tím, že

se desacetylmepipranolol stanoví v odparku vysoko účinnou kapalinovou chromatografií, s výhodou s elektrochemickou detekcí, za použití vnitřního standardu.